UNIVERSITÀ DI PISA
ISTITUTO DI PATOLOGIA VEGETALE
E DI MICROBIOLOGIA AGRARIA E TECNICA
OSSERVATORIO REGIONALE DI FITOPATOLOGIA

285

O. VERONA e M. FAGIOLI

Sulla presunta azione fungicida dello Juglone

Estratto dal « Nuovo Giornale Botanico Italiano »,
n. s., vol. LIX, n. 2-4, 1952

COMMONWEALTH MYCOLOGICAL INSTITUTE
3 MAR 1954

O. VERONA e M. FAGIOLI

SULLA PRESUNTA AZIONE FUNGICIDA DELLO JUGLONE (*)

(CON UNA FIGURA NEL TESTO)

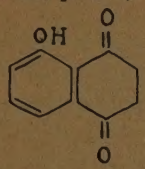
presentato il 20 dicembre 1952

Sono note le proprietà antibiotiche di molti composti chinonici e il particolare significato che ad essi può essere attribuito, in quanto presenti nelle piante, nel meccanismo di difesa verso agenti patogeni.

In quest'ordine di idee ci è apparso interessante studiare nelle sue possibili azioni antibiotiche un composto chinonico normalmente presente in alcune specie del genere *Juglans* - *J. nigra, J. regia, J. cinerea* - denominato juglone e già presentato da GRIES come composto ad azione fungicida (1).

È, lo juglone, una sostanza cristallina che fonde a 155° C., di calore giallo-arancione, insolubile in acqua, ma solubile in soluzioni diluite di idrato sodico, ac. acetico (a caldo) o cloroformio.

Si ottiene facilmente da mallo di noce (v. BEILSTEIN, *Handh. Org. Chem.* vol. VIII, p. 308). Chimicamente, corrisponde al 5-idrossi-1,4-naftochinone:



Sull'attività antibiotica dello juglone non si hanno notizie precise. Sappiamo peraltro come l'impiego del mallo verde delle noci fosse in uso presso Greci e Romani per combattere i funghi della tigna contro i quali sembra relativamente efficace conforme avrebbero poi precisato BRISSEMORET e MÒCHAND (2)

(*) Dall'Istituto di Patologia Vegetale e Microbiologia Agraria e Tecnica dell'Università di Pisa (Direttore Prof. ONORATO VERONA).

(1) G. A. GRIES. — *Juglone (5-hydroxy-1, 4-naphthoquinone): a promising fungicide.* Phytophth., vol. 33, p. 1112, 1943.

(2) BRISSEMORET e MÒCHAND. — *Sur une nouvelle classe de médicaments de la peau; le quinones peroxydes.* Abstract in Jour. Pharm. et Chim., vol. 16, p. 283, 1917.

Gries nel 1943 presentò lo juglone, come si è ricordato, quale promettente fungicida. Dopo questa segnalazione che valse a far includere la sostanza nell'elenco dei composti ad azione antibiotica ([3]), non si sono però più avute, a quanto ci consta, altre segnalazioni.

Nell'intento di meglio precisare il valore antibiotico da attribuirsi a questo composto chinonico sono state pertanto allestite alcune ricerche sopra le quali qui si riferisce. (*)

I. - *Azione dello juglone su Schizomiceti.*

Una prima prova è stata eseguita con il noto metodo del pozzetto prendendo a test *Staphylococcus aureus, Escherichia coli* e *Bac. subtilis* (**). Le zone di inibizione che si ottennero in corrispondenza delle varie concentrazioni furono le seguenti:

concentrazione	alone di inibizione in mm.		
°/oo	*Staph. aureus*	*Esch. coli*	*Bac. subtilis*
0.1	0.8-1		2.5
0.25	1.5-1.7		3.5
0,50	2.5-2.7		5.7
0.75	3.4	nessuna	7.—
1.—	3.8	azione	7.7
1.5	4.4	inibente	8.5
2.—	4.6		8.7

Per quanto il metodo informa si osserva che lo juglone manifesta una certa azione antibiotica verso *Staph. aureus* e *Bac. subtilis*, non verso *Esch. coli;* ma che essa azione appare assai debole occorrendo raggiungere concentrazioni piuttosto elevate per avere zone di inibizione neppure molto estese. Tale modesta azione antibiotica è mantenuta, peraltro, dalle soluzioni di juglone anche se lasciate a sè per un certo tempo. Ripetuta infatti l'esperienza con soluzioni lasciate esposte all'aria per 7 e più giorni si sono avute zone di inibizione pressochè uguali a quelle prima ottenute.

Successivamente, altre specie microbiche - incluso *Staph. aureus, Esch. coli* e *Bac. subtilis* - sono state coltivate in agar presente juglone in quantità seriate nei limiti dello 0.3-1 °/oo.

([3]) L. Karel. — *A dictionary of antibiosis.* New York, 1951.

(*) È stato usato juglone, chimicamente puro, della L. Light & Co. di Colnbrook (Inghilterra).

(**) Piastre allestite con agar-nutritivo (pH6.9) per *Staph. aureus* e *Esch. coli*; con agar-fagiuoli (pH 7.2) per *Bac. subtilis.*

Fu ottenuto:

	sviluppo in agar contenente juglone (‰)					
	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9	1
Staphyloc. aureus	+	+	+	+	+	±
Escherichia coli	+	+	+	+	+	+
Agrobact.tumefaciens	+	+	+	+	+	+
Bac. subtilis	+	+	+	—	—	—
Bac. asterosporus	+	+	+	+	+	±
Bac. vulgatus	+	+	+	+	+	+
Bac. mesentericus	+	+	+	+	+	+
Bac. megatherium	+	+	+	+	+	±
Bac. fusiformis	+	+	+	+	+	±
Bac. robur	+	+	+	—	—	—

L'inefficacia o scarsa efficacia del composto risulta dunque apparire anche per altre specie.

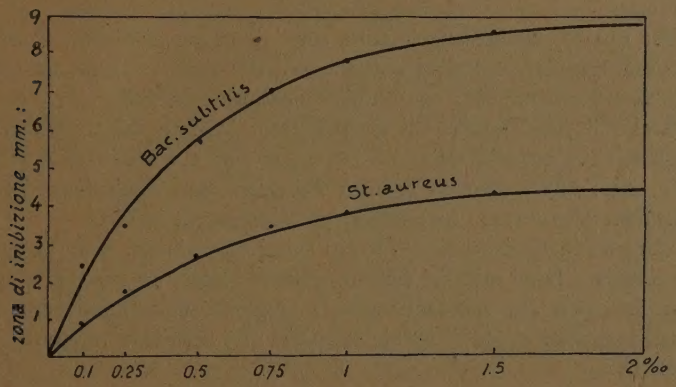


Fig. 1

2. - *Azione dello juglone sui lieviti.*

Nei limiti delle dosi impiegate — cioè fino ad un massimo del 2 ‰ — lo juglone aggiunto ad agar-malto non manifesta azione inibente verso i lieviti.

Sono state saggiate alcune specie rappresentative quali: *Saccharomyces cerevisiae* var. *ellipsoideus* (Hansen) Dekker, *Sacch. chevalieri* Guill., *Sacch. (Zygosacch.) veronae* Lodder et v. Rij, *Hansenula* sp., *Debaryomyces tyrocola* Konokotina, *Torulaspora Rosei* Guill., *Torulopsis utilis* (Henneb.) Lodder, *Rhodotorula* sp., *Candida albicans* (Robin) Berkh., *Candida pulcherrima* (Lindner) Windisch.

3. - *Azione dello juglone sui funghi a micelio.*

Nei mezzi agarizzati lo juglone, presente nelle quantità del 4 °/oo non inibisce lo sviluppo dei funghi a micelio che abbiamo saggiato. Le specie coltivate furono: *Alternaria porri* (Ell.) Saw. f. sp. *solani* (E. et M.) Neergaard, *Aspergillus* sp. *(glaucus)*, *Asp. niger* v. Tiegh., *Asp. oryzae* (Ahlb.) Cohn, *Botrytis cinerea* Pers., *Endothia parasitica* (Murr.) P. J. et H. W. And., *Fusarium avenaceum* (Fr.) Sacc., *Fus. lini* Bolley, *Fus. vasinfectum* Atk., *Penicillium citrinum* Thom, *Pen. chrysogenum* Thom, *Pen, cyclopium* Westling, *Pen javanicum* v. Beyma, *Pen. flavidorsum* Biourge, *Pen. notatum* Westl., *Rosellinia necatrix* (Hart.) Berl., *Sclerotium Rolfsii* Sacc., *Sphaeropsis dalmatica* (Thüm.) Gig., *Stemphylium botryosum* Wallr., *Stemph. pyriforme* (Cda) Bon., *Trichoderma* sp., *Trichothecium roseum* Link, *Verticillium albo-atrum* R. et Berth.

Attesa l'affermazione di Gries (op. cit.) peraltro basata sui risultati ottenuti saggiando solo due specie *(Sclerotinia fructicola* e *Macrosporium sarcinaeforme)* il nostro reperto, così decisamente negativo, meritava conferma.

Per questo, alcune specie sono state di nuovo coltivate; e, desiderando metterci in condizioni sperimentali diverse, si è fatto uso questa volta, di un mezzo colturale liquido anzichè agarizzato.

Scelto il noto liquido di Czapek-Dox, lasciato tale o addizionato di juglone nelle quantità dello 0,5-1-2 °/oo in esso si è seminato *Aspergillus oryzae, Asp. niger, Botrytis cinerea, Fusarium lini, Penicillium citrinum, Verticillium albo-atrum.* Incubazione in termostato a 25°C.

Ebbene, in ogni caso, si è avuto sviluppo positivo. Anzi, a termine della coltura, i feltri micelici furono prelevati, lavati ed essiccati a 105°C. ottenendosi pesi che indicano come lo juglone, nelle condizioni sperimentali realizzate e per le specie saggiate, non manifesti neppure azione di disturbo.

Peso in sost. secca dei feltri micelici di alcuni funghi sviluppati in liq. di Czapek-Dox presente o non presente juglone

	controllo	juglone °/oo		
		0.5	1.—	2.—
Aspergillus oryzae	320	317	342	302
» *niger*	405	435	398	417
Botrytis cinerea	280	301	277	290
Fusarium lini	266	250	258	272
Penicillium citrinum	312	286	330	308
Verticillium albo-atrum	190	210	205	187

È da aggiungersi che nulla di anormale si è notato nella fruttificazione come nell'aspetto microscopico di queste specie. Può solo osservarsi che lo juglone dimostra essere in parte assorbito (in particolare da *Asp. niger*) come indica il colore giallo-bruno che vengono ad assumere le ife.

Concludendo non si esclude, in base ai dati raccolti, che lo juglone eserciti una molto debole azione antibiotica verso alcune specie di Schizomiceti; ma nessuna azione antibiotica sembra esso esercitare verso i lieviti e i funghi a micelio. I risultati di GRIES si pensa quindi che debbano essere accettati con molta riserva.

SUMMARY

Having experimented the juglone in its antibiotic action it has been seen that such an action manifests itself very weackly towards the Schizomycetes. No action it acts towards yeasts, and mycelium fungi including phytopatogenus fungi (against what has been adfirmed by others precedently).

RIASSUNTO

Sperimentato lo juglone nella sua azione antibiotica si è visto che tale azione si manifesta assai debole verso gli Schizomiceti. Nessuna azione, contrariamente a quanto in precedenza era stato affermato da altri, esso esercita verso lieviti e funghi a micelio incluso in questi funghi fitopatogeni.